

## РОЛЬ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА В ОПРЕДЕЛЕНИИ РЕЖИМОВ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ТЕРАПИИ

*Е.В. Некрасов, В.Н. Трусов, Т.К. Токаев, Г.И. Семенов, Д.А. Иванова, М.М. Журавлева  
ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом  
Департамента здравоохранения города Москвы»*

## THE ROLE OF LABORATORY EXAMINATION OF SURGICAL MATERIAL BY DIFFERENT METHODS IN DETERMINING THE REGIMEN OF ANTI-TUBERCULOSIS THERAPY

*E.V. Nekrasov, V.N. Trusov, T.K. Tokaev, G.I. Semenov, D.A. Ivanova, M.M. Zhuravleva*

*У 113 больных туберкулезом легких исследован операционный материал микроскопическим, бактериологическим и молекулярно-генетическими методами. При микроскопии резектата кислотоустойчивые микобактерии выявляли в 70,8% случаев, при бактериологическом исследовании рост *M. tuberculosis* получен в 17,7% случаев. При молекулярно-генетическом исследовании ДНК микобактерии туберкулеза выявляли в 82,3% (95% ДИ 74,2-88,3%). В 21,2% (95%ДИ 14,6-29,7%) случаев по данным молекулярно-генетического исследования операционного материала получена впервые диагностированная лекарственная устойчивость *M. tuberculosis*, что позволило в ранние сроки после операции оптимизировать схему лечения.*

*Ключевые слова:* туберкулез, лекарственная устойчивость, хирургическое лечение, операционный материал, молекулярно-генетический метод

### Введение

Одним из важных компонентов комплексного лечения больных туберкулезом легких является хирургический метод [7, 10, 12]. На эффективность последнего влияет множество факторов: сроки до- и послеоперационного лечения, социальный статус пациентов, переносимость противотуберкулезных препаратов (ПТП), сопутствующие заболевания, наличие бактериовыделения и лекарственной устойчивости (ЛУ) микобактерий туберкулеза (МБТ), полученных из мокроты и операционного материала [8, 9, 13]. Правильно подобранная схема лечения пациентов, основанная в том числе на данных лабораторного исследования операционного материала, влияет на эффективность лечения, частоту обострений и рецидивов в послеоперационном периоде [5, 11]. По данным литературы, во фтизиохирургической практике активно стал применяться молекулярно-генетический метод (МГМ) исследования операционного материала, при этом частота выявления ДНК МБТ варьирует от 76,4 до 97,9% [1, 3, 6]. Отмечено, что спектр лекарственной чувствительности (ЛЧ), определенной разными лабораторными методами, может различаться у МБТ, вы-

*In 113 patients with pulmonary tuberculosis, the surgical material examined using microscopic, bacteriological, and molecular genetic methods. Microscopic examination revealed acid-resistant mycobacteria in 70.8% of cases; the growth of *M. tuberculosis* detected in 17.7% of cases. A molecular genetic method revealed the DNA of *M. tuberculosis* in 82.3% (95% CI 74.2-88.3%). According to the results of molecular genetic studies of the surgical material, the drug resistance of *M. tuberculosis* was newly diagnosed in 21.2% (95% CI 14.6-29.7%) of cases, which helps to optimize the treatment regimen in the early stages after surgery.*

*Key words:* tuberculosis, drug resistance, surgical treatment, surgical material, molecular genetic method.

деленных из мокроты и из операционного материала. Важной проблемой остается выявление скрытой ЛУ МБТ у пациентов без бактериовыделения [1, 4, 5]. Полученная при этом информация в кратчайшие сроки позволяет корректировать послеоперационную схему химиотерапии.

### Цель исследования

Оценить частоту выявления различными лабораторными методами лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам микобактерий туберкулеза, выделенных из операционного материала.

### Материалы и методы исследования

Исследован операционный материал 113 пациентов, оперированных по поводу туберкулеза легких в туберкулезном хирургическом отделении № 2 Клиники № 1 ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ» в 2016 году, – 69 (61,1%) мужчин и 44 (38,9%) женщины. По поводу впервые выявленного туберкулеза прооперировано 87 (76,9%) пациентов, туберкулеза с хроническим течением – 26 (23,1%). Бактериовыделение при выявлении имело

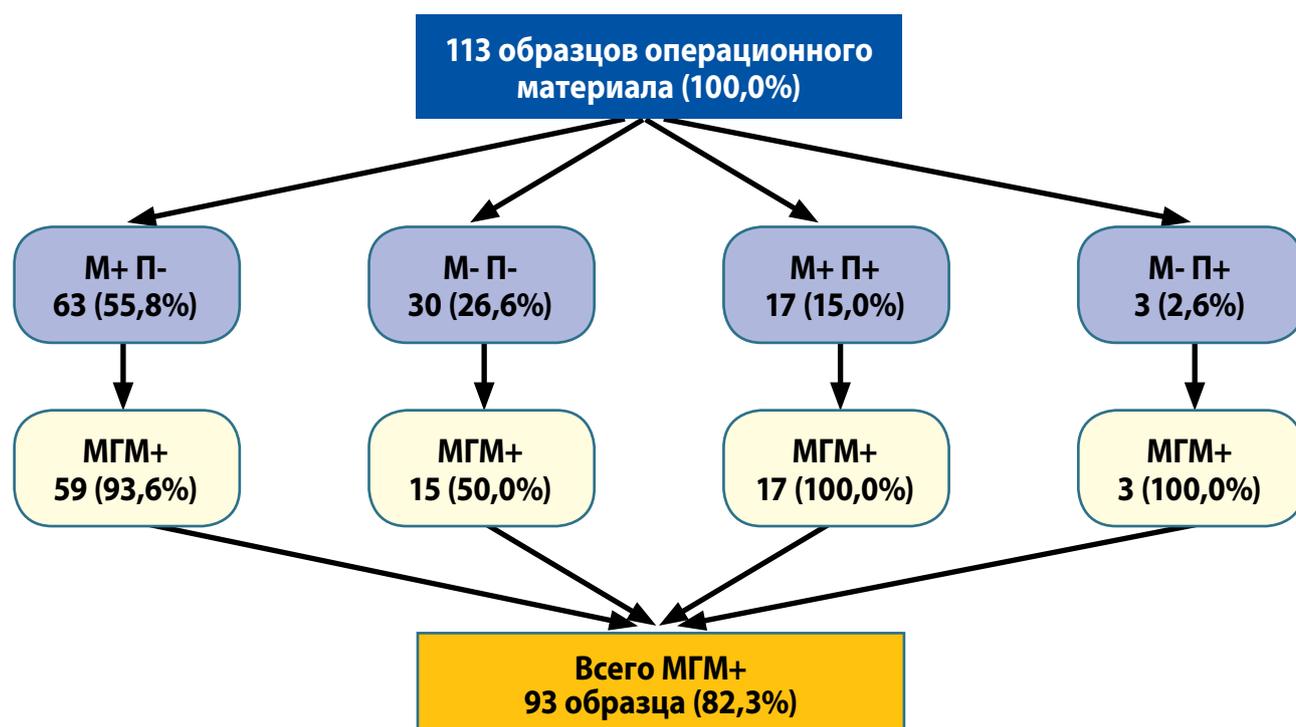


Рис 1. Выявление *M. tuberculosis* и ДНК *M. tuberculosis* по данным микроскопических, бактериологических и молекулярно-генетических исследований операционного материала у 113 оперированных пациентов:

*М* – люминесцентная микроскопия операционного материала («+» наличие, «-» отсутствие КУМ);

*П* – бактериологический посев операционного материала («+» наличие, «-» отсутствие роста МБТ);

*МГМ* – молекулярно-генетический метод исследования операционного материала («+» наличие ДНК МБТ)

место у 56 пациентов (49,6%), из них у 31 (55,3%) выявлена ЛУ МБТ. У 57 чел. (50,4%) на дооперационном этапе МБТ не были выявлены. На момент выполнения оперативного вмешательства бактериовыделение сохранялось у 16 (14,2%) пациентов.

Всем больным проведены различные виды резекционной хирургии легких: резекции в пределах одного сегмента выполнены 39 (34,5%) пациентам, в пределах двух сегментов – 35 (31%), лобэктомии – 15 (13,3%), комбинированные резекции – 17 (15%), пульмонэктомии – 7 (6,2%) пациентам.

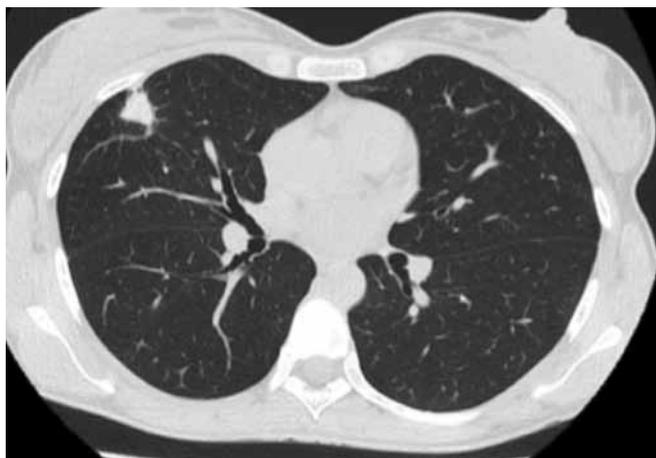
Все образцы операционного материала (ткани каверны, туберкулемы) исследованы с помощью люминесцентной микроскопии, микробиологических и молекулярно-генетических методов на наличие МБТ и ДНК МБТ. Посев и определение лекарственной чувствительности к ПТП I и II ряда производили на жидкой среде в автоматизированной системе ВАСТЕС™

MGIT™ 960 и на плотной среде (Финн-2). МГМ включали использование ПЦР в реальном времени («Амплитуб РВ», «Синтол», Россия) и биологических микрочипов («ТБ-БИОЧИП», «ТБ-БИОЧИП-2», «ТБ-ТЕСТ», «БИОЧИП-ИМБ», Россия). При этом выявляли ЛУ к трем главным ПТП – изониазиду, рифампицину, фторхинолонам, в ряде случаев к аминогликозидам и этамбутолу.

Статистическая обработка в среде программ Microsoft Excel и IBM SPSS Statistics version 21.0 включала использование дескриптивных методов, при оценке вероятности положительного результата методики – расчет отношения шансов (ОШ) и его 95% доверительного интервала (95% ДИ). При оценке согласованности результатов лабораторных методик рассчитывали коэффициент каппа Коэна. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Таблица. Характеристика лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*, выделенных из операционного материала (результаты микробиологического исследования)

Группа пациентов	Число пациентов с разными типами лекарственной устойчивости (абс.)			Итого	
	Полирезистентность	МЛУ	ШЛУ	абс.	%
С впервые выявленной ЛУ МБТ	2	10	1	13	65,0
С одинаковым спектром ЛУ МБТ при выявлении в мокроте и в операционном материале	1	1	1	3	15,0
С эффектом амплификации ЛУ МБТ	–	1	3	4	20,0
<b>Всего</b>	<b>3</b>	<b>12</b>	<b>5</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>



**а**



**б**

Рис. 2. Компьютерная томография органов грудной клетки пациентки Б.: а) при выявлении, б) через один месяц лечения по III режиму противотуберкулезной химиотерапии

### Результаты исследования и обсуждение

При люминесцентной микроскопии содержимого туберкулем или каверн кислотоустойчивые микобактерии выявлены у 80 (70,8%) пациентов.

Методом посева МБТ выделены только у 20 (17,7%) пациентов. Из них в 65% случаев (13 пациентов) при исследовании полученной культуры МБТ ЛУ выявлена впервые, что составило 11,5% из всех оперированных пациентов. Еще у 3 пациентов (15% случаев) спектр ЛУ МБТ был такой же, как и у выделенных из мокроты перед операцией, а у 4 (20%) пациентов наблюдался эффект амплификации ЛУ. У 12 (60%) из этих 20 пациентов выявлена множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) МБТ, у 5 (25%) – широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) МБТ и у 3 (15%) – полирезистентность МБТ (таблица). У 93 (82,3%) пациентов при посеве операционного материала роста МБТ не получено.

Чувствительность МГМ при исследовании операционного материала была более высокой: ДНК МБТ выявлена у 93 из 113 пациентов (82,3%, 95% ДИ 74,2–88,3%). Из рисунка 1 видно, что у пациентов с положительными микроскопией и посевом резектата на МБТ ДНК выявляли чаще – в 100% образцов (95% ДИ 78,4–100%), по сравнению с образцами, в которых МБТ обнаруживали только одним из перечисленных методов (ОШ 1,23, 95% ДИ 1,14–1,44) или не обнаруживали вообще (ОШ 2,13, 95% ДИ 1,48–3,09). В образцах с негативным результатом и посева, и микроскопии ДНК возбудителя выявлена в 50% (95% ДИ 33,1–66,9%) случаев.

Следует отметить, что ДНК возбудителя выявлена у 74 из 93 пациентов (79,6%, 95% ДИ 70,2–86,6%) с отрицательным посевом операционного материала. Из них в 17,6% случаев (13 пациентов, 11,5% из всех оперированных больных) впервые выявлена ЛУ, ассоциированная с мутациями в геноме МБТ.

У 11 из 20 (55%) пациентов с положительным посевом операционного материала ЛУ МБТ впервые выявлена молекулярно-генетическим методом, что составило 9,7% из всех пациентов. В трех случаях выявлены расхождения спектра ЛУ МБТ, полученного с помощью микробиологического и молекулярно-генетического методов, по главным препаратам – изониазиду или рифампицину. Еще в двух случаях с помощью МГМ выявлены ДНК, ассоциированные с чувствительностью МБТ ко всем ПТП, далее методом посева у них установлено наличие МЛУ МБТ.

Результаты определения ЛУ по данным исследования мокроты и операционного материала (с помощью МГМ) показа-



Рис. 3. Операционный материал пациентки Б. Макропрепарат средней доли правого легкого: фокус с полостью распада, с жидким казеозом, вокруг фиброз

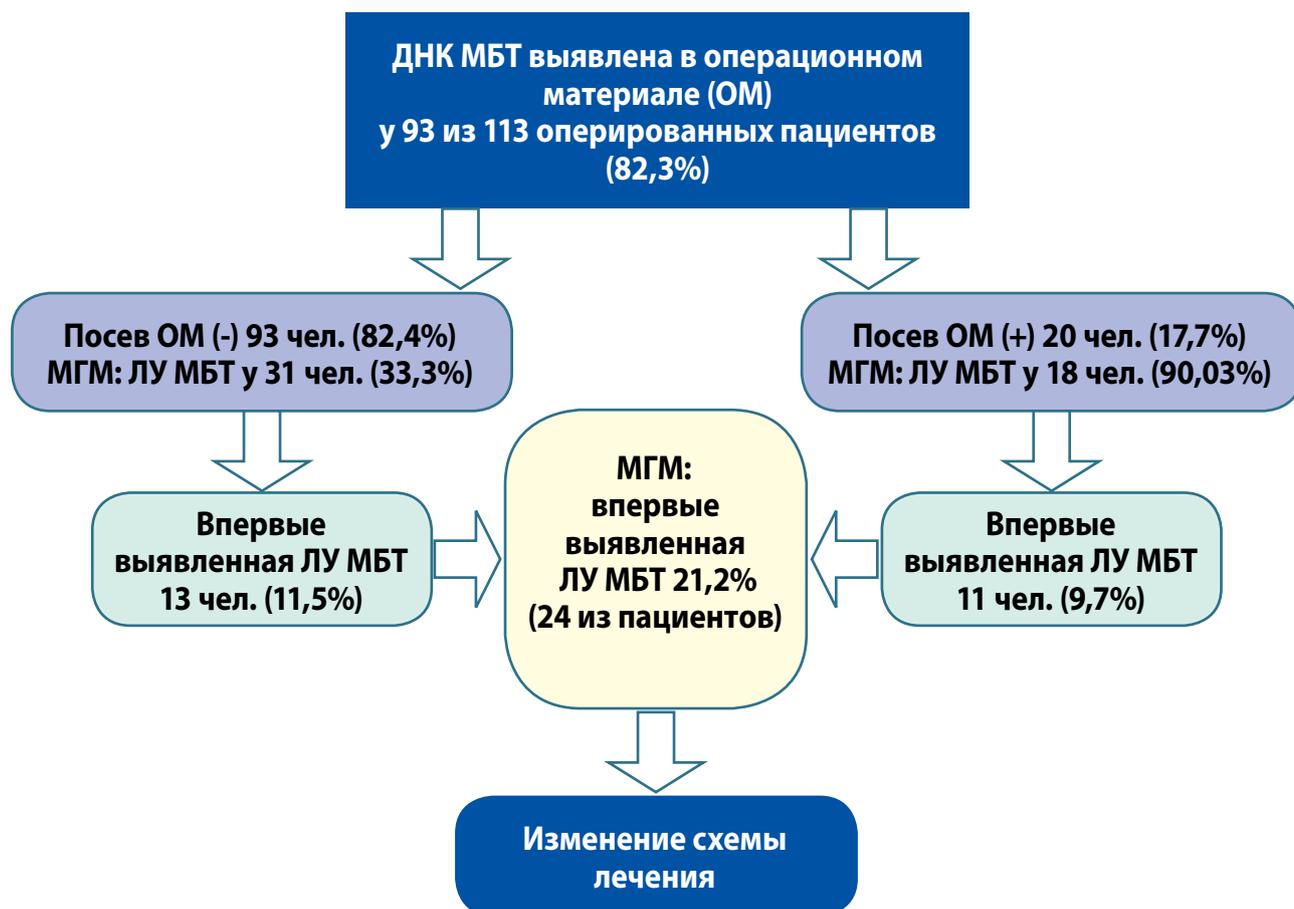


Рис. 4. Частота первичного выявления ЛУ МБТ по данным молекулярно-генетического исследования операционного материала у пациентов с отрицательным и положительным посевом резектата легкого

ли высокую степень согласованности (коэффициент  $k = 0,47$ ,  $p < 0,001$ ). У пациентов с лекарственной устойчивостью МБТ по данным исследования мокроты шансы обнаружить возбудителя с ЛУ в операционном материале были значимо выше (ОШ = 13,3, 95% ДИ 4,5–38,4).

Использование МГМ при исследовании операционного материала позволило в короткие сроки (первые 2–3 суток после операции) выявить ДНК МБТ, ассоциированные с ЛУ, у 24 из 82 (29,3%, 95% ДИ 20,5–39,9%) пациентов с сохраненной ЛЧ МБТ к ПТП в мокроте и пациентов без бактериовыделения, что составило 21,2% из всех оперированных пациентов (95% ДИ 14,6–29,7%). В частности, среди оперированных пациентов без бактериовыделения с момента выявления заболевания и до операции (57 чел., 50,4%) в 35% случаев МГМ (у каждого третьего) выявлена впервые диагностированная ЛУ МБТ.

Таким образом, у каждого пятого оперированного больного, по данным МГМ, в операционном материале выявлялась впервые диагностированная ЛУ *M. tuberculosis*, что позволило в ранние сроки корректировать схему лечения в послеоперационном периоде, с переводом пациента на II (8 чел.), IV (12 чел.) или V (4 чел.) режим химиотерапии. Клиническое излечение констатировано у всех прооперированных больных.

При динамическом наблюдении в течение двух лет реактивации туберкулезного процесса ни в одном случае не выявлено.

#### Клинический пример

Пациентка Б., 36 лет, диагноз при выявлении: Новообразование средней доли правого легкого неясной этиологии (туберкулез? опухоль?). Сопутствующий диагноз: Внепеченочная портальная гипертензия. ОУ миопия слабой степени. Врожденный вывих тазобедренных суставов.

При КТ органов грудной клетки при выявлении в С4 правого легкого определялся фокус с относительно четкими контурами, размерами 20 × 15 мм, в толще фокуса и рядом с ним – кальцинаты, слева в нижней доле – мелкий кальцинат. Проба с антигеном туберкулезным рекомбинантным положительная (папула 5 мм), тест TSPOT.TB – также с положительным результатом. При фибробронхоскопии патологии не выявлено, при гистологическом исследовании чрезбронхиального биоптата легкого признаков гранулематозного воспаления и опухолевого роста не выявлено. При исследовании мокроты и бронхиального смыва всеми методами МБТ не выявлены.

Начато лечение по III стандартному режиму химиотерапии. При контрольной КТ через один месяц отмечена отрицательная динамика в виде нарастания инфильтрации в С4 правого

легкого, появления перибронхиальной инфильтрации по направлению к корню. В структуре образования – кальцинат (рис. 3). Представлена на комиссию по торакальной хирургии: в связи с отрицательной динамикой по данным КТ ОГК на фоне химиотерапии, онкологической настороженностью определены показания к оперативному лечению – удалению средней доли правого легкого со срочным гистологическим исследованием.

Проведена лечебно-диагностическая операция: средняя лобэктомия правого легкого. Макроскопическая картина операционного материала: фокус с полостью распада, с жидким казеозом, вокруг фиброз. Заключение гистологического исследования операционного материала: инфильтративный туберкулез (рис. 4).

При исследовании содержимого фокуса в легком на микобактерии методом люминесцентной микроскопии кислотоустойчивые микобактерии не обнаружены, при посеве на жидкие и плотные среды рост МБТ не получен. По данным МГМ – найдены ДНК МБТ, определена устойчивость к изониазиду, рифампицину, фторхинолонам и аминогликозидам (ШЛУ), чувствительность к этамбутолу. Пациентка представлена на центральной врачебной комиссии, установлен диагноз впервые выявленного инфильтративного туберкулеза средней доли правого легкого, МБТ(-), ШЛУ МБТ (ЛУ к Н, R, Fq, Km по результатам исследования операционного материала). Переведена на V режим химиотерапии с включением моксифлоксацина, циклосерина, протионамида, пиразинамида, этамбутола.

## Заключение

При микроскопии резектата КУМ выявляли в 70,8% случаев, при посеве рост МБТ получен в 17,7% случаев. Все полученные

методом посева культуры МБТ были лекарственно-устойчивыми. Чувствительность МГМ оказалась максимальной: ДНК МБТ выявляли в 82,3%, т.е. в 4,6 раза чаще, чем культуральным методом, что согласуется с данными ранее проведенных исследований [6].

По данным посева операционного материала доля случаев впервые выявленной ЛУ МБТ среди всех прооперированных пациентов составила 11,5%, по данным МГМ – 21,2% (рис. 4). Таким образом, у каждого пятого оперированного больного (среди пациентов без ранее определенного бактериовыделения – у каждого третьего) по данным МГМ в операционном материале выявлялась не диагностируемая ранее ЛУ МБТ, что позволило в ранние сроки корректировать схему лечения в послеоперационном периоде с переводом пациента на II, IV или V режим химиотерапии. В случае несовпадения ЛУ МБТ в резектате по данным МГМ и бактериологического метода при назначении адекватной послеоперационной схемы химиотерапии необходимо опираться на результат, свидетельствующий о наличии впервые полученной ЛУ либо о ее усилении.

В заключение необходимо отметить важность обнаружения ЛУ МБТ всеми возможными методами на дооперационном этапе (при выявлении туберкулеза легких у пациентов). В случае проведения операции обязательное исследование операционного материала микробиологическими и молекулярно-генетическими методами позволяет уточнить наличие ЛУ МБТ или эффект ее амплификации на фоне проводимого лечения, назначить адекватную схему химиотерапии, уменьшить вероятность развития обострений и рецидивов в послеоперационном периоде.

## Литература

1. Белоусова К.В. Характеристика клинически значимых биологических свойств возбудителя туберкулеза, выделенного из резецированных участков легких больных туберкулезом: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Екатеринбург, 2013. – 25 с.
2. Бобровская К.В., Кравченко М.А., Бердников Р.Б. Лекарственная чувствительность микобактерий туберкулеза, полученных из мокроты и операционного материала больных с туберкулемами легких // Уральский медицинский журнал. – 2013. – № 2 (107). – С. 50-53.
3. Вахрушева Д.В., Еремеева Н.И., Умпелева Т.В., Белоусова К.В. Опыт применения технологии «ТБ-ТЕСТ» («БИОЧИП-ИМБ», Россия) в диагностическом алгоритме // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95. – № 10. – С. 29-35.
4. Елипашев А.А., Полуэктов Е.И., Шпрыков А.С. Значение бактериологического исследования операционного материала у больных туберкулезом легких // Медицинский альманах. – 2015. – № 5 (40) – С. 118-121.
5. Ениленис И.И. Эффективность частичных резекций легких в комплексном лечении деструктивного туберкулеза у больных с множественной лекарственной устойчивостью микобактерий: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2008. – 22 с.
6. Исакова А.И., Носова Е.Ю., Гармаш Ю.Ю. и др. Современные молекулярно-генетические технологии в диагностике туберкулеза при исследовании операционного материала // Туберкулез и социально значимые заболевания. – 2018. – № 1. – С. 12-19.
7. Рейхруд М.В., Краснов Д.В., Краснов В.А. и др. Отдаленные результаты хирургического лечения больных туберкулезом легких, проживающих в регионе с высокой распространенностью заболевания // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95. – № 2. – С.13-15.
8. Рогожина Н.А. Причины реактивации туберкулеза легких после хирургических вмешательств, проведенных у впервые выявленных больных, на ранних сроках лечения и меры их профилактики: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1994. – 16 с.
9. Рогожкин П.В., Бородулина Е.А. Отдаленные результаты лечения больных туберкулезом легких, перенесших радикальную резекцию легких // Туберкулез и болезни легких. – 2018. – Т. 96. – № 3. – С. 24-28.

10. Стрелис А.К., Стрелис А.А., Анастасов О.В. и др. Хирургическое лечение туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью в условиях программы DOTS-PLUS // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2008. – № 2. – С. 48-53.
11. Стрелис А.А. Хирургическое лечение лекарственно-устойчивого туберкулеза легких и клиническая реабилитация больных: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Томск, 2005. – 49 с.
12. Olcmen A., Gunluoglu M., Denir A. et al. Role and out care of surgery for pulmonary tuberculosis // Asian Cardiovasc. Thorac. Ann. – 2006. – Vol. 14. – P. 363-366.
13. Wang L., Xia F., Li F. et al. Pulmonary resection in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis // Medicine. – 2017. – Vol. 96. – N. 50. – P. e9109-e9109 (1).

### Сведения об авторах

**Некрасов Евгений Викторович** – врач торакальный хирург туберкулезного хирургического отделения № 2 Клиники № 1 ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. 8 (495) 603-30-93, тел./факс 8 (499) 785-20-82

e-mail: evgen-74@yandex.ru

**Трусов Всеволод Николаевич** – заведующий туберкулезным хирургическим отделением (торакальным) ГБУЗ города Москвы «Туберкулезная клиническая больница № 3 имени профессора Г.А. Захарьина Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 125466, г. Москва, Куркинское шоссе, д. 29

Тел. 8 (495) 572-71-45, тел./факс 8 (495) 572-71-45

e-mail: trusovvsevolod@yandex.ru

**Токаев Тимур Казбекович** – врач торакальный хирург туберкулезного хирургического отделения № 2 Клиники № 1 ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. 8 (495) 603-30-93, тел./факс 8 (499) 785-20-82

e-mail: tthoracic@gmail.com

**Семенов Геннадий Иванович** – врач торакальный хирург туберкулезного хирургического отделения № 2 Клиники № 1 ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. 8 (495) 603-30-93, тел./факс 8 (499) 785-20-82

e-mail: gennadysemenov@gmail.com

**Иванова Диана Александровна** – ученый секретарь ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», доктор медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. +7 (499) 269-14-10, тел./факс +7 (495) 964-86-37

e-mail: d-ivanova@list.ru

**Журавлева Марина Михайловна** – врач клинической лабораторной диагностики централизованной бактериологической лаборатории ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. 8 (499) 268-70-33, тел./факс 8 (499) 785-20-82

e-mail: 4816932@list.ru